

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian analitik dengan desain *cross sectional*. Variabel penelitian terdiri dari variabel bebas yaitu pasien diabetes melitus tipe 2 yang mengalami ulkus diabetikum dan variabel terikatnya yaitu jumlah leukosit dan kadar C-Reaktif Protein.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Rumah Sakit Umum Daerah dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung.

2. Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei sampai Juni tahun 2024.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini sejumlah 30 pasien diabetes melitus tipe 2 yang mengalami ulkus diabetikum di RSUD dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung pada tahun 2024.

2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini sejumlah 30 pasien diambil dari populasi dengan teknik *purposive sampling*. *Purposive sampling* dilakukan dengan mengambil semua subjek yang memenuhi kriteria.

a. Kriteria Inklusi

- 1) Melakukan pemeriksaan darah lengkap.
- 2) Bersedia menjadi responden dalam penelitian.

b. Kriteria Eksklusi

Pasien diabetes melitus tipe 2 yang sedang menderita penyakit lain (seperti: leukemia/kanker darah, tuberculosis paru, penyakit lupus atau rheumatoid arthritis, demam typhoid, malaria dan penyakit lainnya yang berhubungan dengan infeksi dan inflamasi).

D. Variabel dan Definisi Operasional

Tabel 3.1 Variabel dan Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1	Pasien DM tipe 2	Pasien DM tipe 2 dengan komplikasi ulkus diabetikum yang berobat di RSUD Abdul Moeloek Provinsi Lampung	Observasi	Data rekam medik	Jumlah pasien DM tipe 2	Nominal
2	Jumlah Leukosit	Jumlah leukoit pada pasien DM tipe 2 dengan komplikasi ulkus diabetikum di RSUD Abdul Moeloek Provinsi Lampung	Observasi	Data Rekam medik	Sel/ μ L darah	Ratio
3	Kadar C-Reaktif Protein	Kadar C-Reaktif Protein pada pasien DM tipe 2 dengan komplikasi ulkus diabetikum di RSUD Abdul Moeloek Provinsi Lampung	Metode Aglutinasi	CRP Latex	mg/L	Ratio

E. Pengumpulan Data

Data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data primer dan data sekunder. Data primer diperoleh dari pemiksaan C-Reaktif Protein pada pasien DM tipe 2 yang mengalami ulkus diabetikum. Data sekunder diperoleh dari data rekam medik pasien DM tipe 2 yang mengalami ulkus diabetikum yang melakukan pemeriksaan darah lengkap untuk mengetahui karakteristik responden dan hitung jumlah leukosit. Pengumpulan data dalam penelitian ini dilakukan dengan langkah langkah sebagai berikut :

1. Peneliti melakukan pra survey lokasi penelitian di RSUD dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung dan membuat proposal penelitian.
2. Mengajukan persetujuan kaji etik dari tim komisi etik penelitian Jurusan Tekonologi Laboratorium Medik Politeknik Kesehatan Tanjungkarang.
3. Setelah mendapatkan persetujuan kaji etik, peneliti mengajukan surat izin penelitian kepada Direktur Politeknik Kesehatan Tanjungkarang.

4. Setelah mendapatkan perizinan dari Direktur Politeknik Kesehatan Tanjungkarang, Peneliti menyerahkan surat izin penelitian kepada bagian Diklat RSUD dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung.
5. Setelah disetujui oleh Direktur Diklat RSUD dr. H Abdul Moeloek, peneliti akan mendapatkan surat balasan dan surat pengantar ke Rekam Medik dan Laboratorium untuk diserahkan kepada kepala ruangan.
6. Peneliti melakukan pengambilan data pasien pada rekam medik berdasarkan nama, nomor rekam medik, dan data hasil pemeriksaan jumlah leukosit sebagai data sekunder.
7. Selanjutnya peneliti mencari pasien yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi untuk memberikan *informed consent* sebelum melakukan pemeriksaan.
8. Setelah mendapatkan persetujuan dari responden penelitian, peneliti melakukan pengambilan sampel.
9. Pengambilan darah vena
Pengambilan sampel dilakukan di ruang rawat inap RSUD dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung dengan teknik pengambilan darah vena menggunakan spuit, yaitu:
 - a. Alat & bahan : Spuit 3/5 ml, alkohol swab, plaster, tourniquet, tabung serum/merah & bantal tangan.
 - b. Cara pengambilan Darah Vena:
 - 1) Peneliti memakai APD lengkap seperti masker, handscoon, dan jas laboratorium.
 - 2) Melakukan pembendungan ikatan dengan tourniquet (dipasang pada lengan bagian atas kira kira 3-4 inci diatas siku, dan mintalah pasien untuk mengepalkan tangan nya agar vena terlihat jelas).
 - 3) Memberi desinfeksi area vena (*median cubiti*) menggunakan swab alkohol dan biarkan hingga mengering
 - 4) Membuka spuit dari kemasan dan pompa plunger untuk memastikan spuit masih berfungsi dengan baik.
 - 5) Membuka tutup jarum spuit, lalu lakukan penusukan ke dalam lumen vena dengan posisi lubang jarum menghadap keatas.

- 6) Setelah darah tampak mengalir lepaskan bendungan vena/tourniquet.
- 7) Menghisap darah dengan cara ditarik secara perlahan sampai jumlah darah yang dikehendaki.
- 8) Kapas diletakan diatas jarum spuit kemudian cabut spuit secara perlahan.
- 9) Peneliti menutup bekas tusukan tadi dengan menggunakan plester dan tekan kira-kira selama 1 menit.
- 10) Kemudian darah dialirkan ke dalam tabung serum melalui dinding tabung dengan posisi spuit tegak lurus dan tabung darah miring yang telah diberi identitas.
- 11) Membuang spuit dan jarum pada tempat sampah infeksius yang disediakan (Nugraha., 2022)

10. Pembuatan serum

- a. Alat & bahan : Centrifuge, tabung serum, mikrotube, handscoon, mikropipet dan yellow tip
- b. Prinsip : pemisahan sel darah merah dan fibrinogen dari serum
- c. Cara kerja pembuatan serum
 - 1) Darah yang telah diambil dimasukkan kedalam tabung serum/merah.
 - 2) Kemudian didiamkan hingga membeku selama 20-30 menit
 - 3) Darah tersebut dicentrifuge selama 5-15 menit dengan kecepatan 3000 rpm
 - 4) Serum yang diperoleh dipisahkan dengan bekuan darah lalu dimasukkan kedalam mikrotube yang sudah diberi identitas (Permenkes., 2013)

11. Pemeriksaan C-Reactive Protein

Pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium RSUD dr. H. Abdul Moeloek untuk memeriksa kadar C-Reactive Protein dengan metode Aglutinasi Latex menggunakan CRP Latex.

- a. Prinsip : Pemeriksaan aglutinasi dilakukan dengan menambahkan partekel latex yang dilapisi antibodi anti CRP pada serum atau plasma penderita sehingga terjadi aglutinasi. Untuk menentukan titer CRP, serum atau plasma penderita diencerkan dengan buffer glisin dengan pengenceran

bertingkat (1/2, 1/4, 1/8, 1/16 dan seterusnya) lalu direaksikan dengan latex. Titer CRP adalah pengenceran tertinggi yang masih terjadi aglutinasi. Metode ini bersifat kualitatif dan semi kuantitatif. Batas deteksi metoda aglutinasi terhadap C-Reactive Protein yaitu 6 mg/L (Agustin., 2016).

- b. Metode : Aglutinasi Latex
- c. Alat Dan Bahan : Kartu slide, pipet tetes, kontrol negatif, kontrol positif, batang pengaduk, rotator, reagen CRP latex, larutan garam/saline dan serum.
- d. Cara kerja pemeriksaan C-Reaktif Protein

1) Metode Kualitatif :

- Membiarkan reagen dan sampel berada pada suhu ruang
- Reagen CRP dikocok secara perlahan sebelum digunakan
- Meneteskan kontrol positif pada lingkaran 1
- Menempatkan 50µl sampel pada lingkaran 2
- Meneteskan kontrol negative pada lingkaran 3
- Menambahkan 1 tetes reagen latex ke masing masing lingkaran.
- Menghomogenkan menggunakan batang pengaduk hingga tersebar dan menutupi cincin lingkaran. Gunakan pengaduk baru untuk masing masing lingkaran
- Memutar kartu pada kecepatan 100 rpm selama 2 menit
- Perhatikan aglutinasi yang terjadi

Interpretasi Hasil :

Positif (+) : Terdapat aglutinasi

Negatif (-) : Tidak terdapat aglutinasi

2) Metode Semi Kuantitatif :

- Menyiapkan slide kartu yang akan digunakan.
- Dengan menggunakan mikropipet, tambahkan 50 µl *saline* 9 g/L ke dalam lingkaran 2, 3, 4, dan 5.
- Menambahkan 50 µl sampel pasien kedalam lingkaran 1 dan 2.
- Mencampurkan saline dan sampel dalam lingkaran 2 dengan cara memipet campuran ke atas dan ke bawah menggunakan mikropipet dengan perlahan lahan untuk menghindari adanya gelembung